

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-298175

(43)Date of publication of application : 10.11.1998

(51)Int.Cl.

C07D311/36

(21)Application number : 09-113858

(71)Applicant : SUNSTAR INC

(22)Date of filing : 01.05.1997

(72)Inventor : MIZUTANI KENICHI

## (54) PRODUCTION OF WATER-SOLUBLE SOYBEAN ISOFLAVONE

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To produce a water-soluble soybean isoflavone high in water-solubility, capable of manifesting a good stability with the passage of time when dissolving the one by mixing a crude extract of a soybean with cyclodextrin in an aqueous solution, and removing an insoluble material therefrom.

SOLUTION: (A) A crude extract obtained from a soybean raw material (preferably soybean hypocotyl, etc., having high content of the isoflavone) is mixed with (B) cyclodextrin in an aqueous solution, and an insoluble material is removed from the obtained mixture to provide the objective water-soluble soybean isoflavone in the method for producing the water-soluble soybean isoflavone. Preferably, the pH of the aqueous solution when mixing the components A with B is regulated so as to be 2-8, and the temperature is regulated so as to be 5-40° C. The aqueous solution preferably includes no organic solvent. A method such as a centrifugation and a filtration can be used for the removal of the impurity. The objective soybean isoflavone useful for prevention, etc., of osteoporosis is cheaply and readily produced.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-298175

(43) 公開日 平成10年(1998)11月10日

(51) Int.Cl.<sup>8</sup>

C 0 7 D 311/36

識別記号

F I

C 0 7 D 311/36

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号

特願平9-113858

(22) 出願日

平成9年(1997)5月1日

(71) 出願人 000106324

サンスター株式会社

大阪府高槻市朝日町3番1号

(72) 発明者 水谷 健一

兵庫県川辺郡猪名川町松尾台2-1-22-210

(74) 代理人 弁理士 青山 葆 (外2名)

(54) 【発明の名称】 水易溶性大豆イソフラボンの製造方法

(57) 【要約】

【課題】 水溶液中に高濃度で溶解し、経時安定性のよい水易溶性大豆イソフラボンの製造方法の提供。

【解決手段】 大豆原料から得た粗抽出物を、水溶液中でサイクロデキストリンと混合させた後、不溶物を除去する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 大豆原料から得た粗抽出物を、水溶液中でサイクロデキストリンと混合させた後、不溶物を除去することを特徴とする水易溶性大豆イソフラボンの製造方法。

【請求項2】 該粗抽出物とサイクロデキストリンとの混合時の水溶液のpHが2～8である請求項1記載の製造方法。

【請求項3】 該粗抽出物とサイクロデキストリンとの混合時の水溶液の温度が5℃から40℃である請求項1記載の製造方法。

【請求項4】 該粗抽出物とサイクロデキストリンとの混合時の水溶液が有機溶媒を含まない請求項1記載の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、骨粗鬆症の予防などに有効な水易溶性大豆イソフラボンを得る製造方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】イソフラボン誘導体は骨粗鬆症、高脂血症など成人疾患に有効であることが知られている。そのため、イソフラボン誘導体を豊富に含有する大豆の摂取が推奨され、それを抽出する方法が種々提案されている。

【0003】大豆イソフラボンを大量に製造する方法としては、特開昭62-126186号には、合成樹脂に大豆抽出液を接触させ、その後イソフラボンを溶出させる方法が提案されている。しかしながら、本方法で得た抽出物は水溶液への溶解性が悪く、また水溶液中での安定性が悪いという問題がある。この抽出物は、水溶液中で酸性領域ではもちろんのこと、イソフラボンの溶解性が高くなるアルカリ性水溶液としても、高濃度では経時的に沈殿を生じる。

【0004】また、イソフラボン等のフラボノイドを水溶液中に高濃度で安定に配合する方法としては、サイクロデキストリンで包接する方法が知られている。

【0005】例えば、特開平6-88993号には、サイクロデキストリンで7-イソプロポキシイソフラボンの包接複合体を製造し、溶解性を高める方法が開示されている。特開昭59-137499号には、同じくサイクロデキストリンでルチンの包接化合物を製造することが開示されている。しかしながら、純度の高い精製品を用いるため高価格になり、また、大豆からの抽出による製造方法に関してはなんらの示唆もされていない。

【0006】また、特開昭63-317059には、大豆煮豆の製法として、加熱殺菌型大豆煮豆を製造するに際し、β-サイクロデキストリンあるいはγ-サイクロデキストリンを添加し、イソフラボン類の保存中での析出を防ぐ製法が開示されている。しかしながら、大豆イ

ソフラボンを高濃度で含む水溶液での安定性については不明である。

【0007】さらに、イソフラボン誘導体は各種の疾患の予防、治療に有効であり、例えば骨粗鬆症の予防に対してその効果を発現するには1日約50mg摂取する必要がある。しかしながら、例えばダイジンについては蒸留水(25℃)に対する溶解度が0.0033mg/mlと極めて低く、有効量である50mg/日を飲料として摂取する場合においては、摂取不可能な大量の服用が必要となり、溶解性を高める必要がある。

【0008】また、ある程度水易溶性にすることにより、腸管吸収を高めることができる。

## 【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、水溶液中に高濃度で溶解し、経時安定性のよい水易溶性大豆イソフラボンを製造する方法を提供しようとするものである。

## 【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、前記の課題を解決すべく鋭意検討した結果、意外にも、大豆粗抽出物を水溶液中でサイクロデキストリンと混合し、不溶物を除去することによって、水溶性が高く、溶解時の経時安定性のよい水易溶性大豆イソフラボンが得られることを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0011】即ち、本発明の要旨は、溶媒抽出などによって得られた大豆粗抽出物を、再度水溶液中に懸濁させ、各種のサイクロデキストリンを併せて混合するものである。その後、遠心分離や、濾過などにより不溶物を除去する。得られた透明な水易溶性大豆イソフラボンを含む溶液はそのまま用いてもよいし、更に濃縮や、固化した後に使用してもよく、極めて製造コストが安価で容易に実施される製造方法である。

## 【0012】

【発明の実施の形態】本発明の製造方法において、原料大豆としては、丸大豆、脱皮大豆、脱脂胚軸、大豆胚軸、大豆粉、あるいは豆腐や分離大豆蛋白質を製造する工程で生じる煮汁またはホエー等、好ましくは、イソフラボン含量が高い大豆胚軸等が用いられる。

【0013】上記大豆原料から本発明の製造方法に用いる原料である大豆粗抽出物を得る方法としては、特に限定されないが、次の工程を採ることができる。原料として丸大豆、脱皮大豆、脱脂胚軸、大豆胚軸、大豆粉など固形原料を用いる場合は、まず粉碎機にて細断、粉碎し、抽出溶媒を加えて大豆粗抽出物溶液を得る。抽出溶媒としては、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール等のアルコール類、アセトンなどのエーテルなどの有機溶媒を用いる。好ましくは、含水アルコール、特に70～90%アルコール、好ましくは約80%アルコール水溶液を用いる。抽出は常温で浸漬することにより行うことができるが、好ましくは70℃程度で還流抽出すれば、イソフラボン配糖体であるマロニル体が分解

し、サイクロデキストリンによる可溶化が向上する。得られた大豆粗抽出物溶液は、濃縮、もしくは乾固する。

【0014】得られた大豆粗抽出物溶液中のイソフラボン含量が低いときは、更に、合成樹脂を用いて濃縮する。高濃度のイソフラボンを含む粗抽出物は、例えば、特開昭62-126186号、あるいは北川らの方法（日本食品工業学会誌、33（12）、821～825：1986）により得ることができる。合成樹脂として、例えば多孔性スチレンージビニルベンゼン樹脂であるダイヤイオンHP-20（三菱化成工業製）、アンパーライトXAD-2、XAD-4（ローム・アンド・ハース社製）、デュライトS-861、S-862（住友化学工業製）を用い、例えば溶液量に対して1/50～1/5倍量をカラムに充填し、大豆粗抽出物溶液を精製する。溶出液としては、30～80%の含水アルコール溶液を用いる。但し、アグリコンと比較して、配糖体がサイクロデキストリンによる可溶化が良好であることから、30～50%の含水アルコール溶液を用いることにより、配糖体を主体としたイソフラボンを回収することが、最終製品の飲料中でより安定性のよいものができ好ましい。濃縮物はさらに加熱、減圧により有機溶媒を完全に除去する。

【0015】本工程により、固形分中イソフラボン含有率20～90%、通常20～70%、好ましくは30～50%の大豆粗抽出物が得られる。その他の成分は、大豆サポニン、大豆蛋白からなる。

【0016】本発明は、かかる大豆粗抽出物を次の操作によって水溶液中での安定性を高めた大豆イソフラボン抽出物を製造する方法である。即ち、大豆粗抽出物を、各種のサイクロデキストリンと水溶液中で懸濁させ、混合する。その後、遠心分離や、濾過などにより不溶物を除去し、透明な水溶性大豆イソフラボンが得られる。

【0017】まず、大豆粗抽出物を水に懸濁させる。その際、大豆イソフラボンの濃度は0.1～100mg/ml、好ましくは0.1～10mg/mlとする。なお、大豆イソフラボン量は、次のようにして求めることができる。即ち適宜希釈した試料を高速液体クロマトグラフィーにより、次の条件で定量を行う。カラム：シリカゲル系逆相ODSカラム、移動相：アセトニトリル：水：酢酸＝15：84.9：0.1～35：64.9：0.1、流速：1.0ml/min、カラム温度：35℃、検出法：UV at 260nm、これにより得られたクロマトグラムにおけるダイジンおよびゲニスチン量の和を大豆イソフラボン量とした。

【0018】混合すべきサイクロデキストリンとしては、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -サイクロデキストリン、G2 $\beta$ -サイクロデキストリンおよびG1 $\beta$ -サイクロデキストリン、あるいはそれらの混合物が用いられる。特に $\beta$ -サイクロデキストリン、G2 $\beta$ -サイクロデキストリン、G1 $\beta$ -サイクロデキストリンが好ましい。サイクロデキストリンの濃度は、該水溶液中に、2～200mg/ml、好まし

くは10～100mg/mlの範囲である。サイクロデキストリンの量がそれ以上では経済的観点より望ましくなく、またサイクロデキストリンの種類によってはそれ自体の溶解性が問題となる。

【0019】大豆イソフラボン粗抽出物とサイクロデキストリンとの比率は、重量比にして、1：0.5～1：50、好ましくは1：5～1：15である。

【0020】また、大豆イソフラボンとサイクロデキストリンとの比率は、重量比にして、1：2～1：20が好ましい。1：2よりも低いときは、保存期間中に抽出物中の成分間の相互作用を起こす大豆サポニンや大豆蛋白を溶解させ、結果的に沈殿を生じるので安定性が十分でなく、また1：20よりも高いときは、粉末化した際に、サイクロデキストリンの重量が必要以上に多くなり、剤形的にも経済的にも望ましくない。混合の際の水溶液のpHは2～8、好ましくは3～6に調整する。該水溶液のpHを調整するための酸としては、食品に用いることができる無機酸、有機酸であればいずれのものでもよく、塩酸、クエン酸、リンゴ酸、酢酸、リン酸およびアスコルビン酸などが例示される。pHが8を越えると、本工程時には一時的に溶解しているものの、大豆中の大豆サポニンや大豆蛋白等他の成分をも多量に溶解させ、酸性飲料等の液体飲料に配合したときに、保存中に沈殿が生じる。また、pHが2を下回ると水溶性大豆イソフラボン自体の劣化が懸念される。

【0021】混合は5℃から40℃、好ましくは15℃から25℃で行なう。温度が40℃を越えると、本工程時には一時的に溶解しているものの、冷却後、沈殿の原因となる成分が混入してしまう。また、この水溶液にはエタノール等の有機溶媒を含有させてはならない。というのは、有機溶媒を含む水溶液で本工程を実施すると、一時的には溶解性のよい大豆イソフラボンが得られるが、その後経時的に沈殿を生じるからである。従って、原料大豆粗抽出物からも、予め有機溶媒を除去する必要がある。

【0022】以上の製造工程により、意外にも、大豆抽出物を濃縮することにより生じた、本来、水難溶性の大豆イソフラボンを可溶化するだけでなく、大豆サポニン、大豆蛋白などを処理前の1/2～1/20にまで低減させ、水溶液中での安定性が高められることとなる。さらに、上記の大豆粗抽出物とサイクロデキストリンとの混合後の懸濁液を遠心分離、濾過などの工程に付すことにより高含有量で透明な大豆イソフラボン水溶液を得ることができる。

【0023】遠心分離は、好ましくは1000～4000rpmで20分～120分間行なう。

【0024】また、該混合懸濁液は必要に応じて濾過する。濾過は、0.1～5 $\mu$ m程度の酢酸セルロース等のフィルターにより行なう。

【0025】この濾液である大豆イソフラボン水溶液

(4)

は、高濃度のイソフラボン含有し、約0.1～4.5mg/mlの濃度となっており、大豆イソフラボン一種であるダイジンの溶解度が0.0033mg/mlであるのに比較して約1000倍程度の濃度とすることができた。

【0026】この濾液は、そのまま飲料に配合してもよいが、配合までの防腐を考慮して、濃縮、乾固してもよい。乾燥重量として、大豆イソフラボンは0.1～90、好ましくは0.5～50、特に好ましくは1～20重量%であり、残分は実質的にほとんどがサイクロデキストリンである。

【0027】かくして得られた水易溶性大豆イソフラボンは、飲料にして供してもよいし、その場合は大豆イソフラボンとして0.1～4.5mg/ml配合することができる。また、錠剤、顆粒などの固形物にして供してもよい。

【0028】

【実施例】以下、実験例、実施例を挙げて本発明をさら

サイクロデキストリン添加条件の検討

に詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0029】実験例1

サイクロデキストリン添加条件の検討

大豆粗抽出物50mg（イソフラボン量として20mg）およびβ-サイクロデキストリン100mgを5mlの種々の溶媒、pHおよび温度にて異なる試験管中で懸濁させた。この際、pHはクエン酸もしくは水酸化ナトリウム水溶液で調整した。その後10分間振とうし、遠心分離（2000rpm、60min）および0.45μmのフィルターでの濾過を行い、その後濾液を真空乾燥し、乾固した。得られた粉体を再度、酸性飲料での応用を考慮して大豆イソフラボンとして50mgを50mlの水に溶かしpH=3.8にクエン酸で調整して、40℃、1ヶ月の安定性試験を行なった。この結果を表1に示す。

【0030】

【表1】

溶媒	pH	温度	安定性試験
100% エタノール	6	20	×
40% エタノール	6	20	×
20% エタノール	6	20	×
水	12	20	×
水	10	20	×
水	9	20	×
水	8	20	○
水	7	20	○
水	6	20	○
水	4	20	○
水	2	20	○
水	9	80	×
水	9	60	×
水	9	40	×
水	9	5	×
水	6	80	×
水	6	60	×
水	6	40	○
水	6	5	○

×-沈殿生成、○-沈殿認められず

【0031】①pHの影響

水溶液中でpHが9以上で本処理を行なった場合、一時的には濾液は完全に溶解するが、何れの条件においても安定性試験において沈殿した。しかしながら、pHが8以下において本処理を行なった場合、保存期間中にイソフラボン可溶化物と保存中に相互作用を生じて沈殿の原因となるサポニン、大豆タンパク等を容易に分離できることが明らかとなった。

②溶媒の影響

アルコール溶液中で本処理を行なった場合、一時的には大豆イソフラボン含有する濾液の乾固粉末は完全に溶解した。しかしながら、安定性試験において1ヶ月後に沈殿した。

③ 温度の影響

60℃程度の加温下において、本処理を行なった場合、アルコール溶液中での処理と同様に一時的には濾液は完

全に溶解するが、何れの条件においても安定性試験で沈殿した。

#### 【0032】実験例2

サイクロデキストリン添加量の検討

大豆粗抽出物50mg（イソフラボン量として20mg）および各種サイクロデキストリン1、10、50、100、150、200および300mgを、実験例1で得られたサイクロデキストリン添加条件に従って（pH9、20℃）5mlの水溶液の入った試験管に懸濁させ、10分

#### サイクロデキストリン添加量の検討

間振とうした後、遠心分離（2000rpm、60min）および0.45μmのフィルターでの濾過を行い、その後濾液を真空乾燥し、乾固した。得られた粉体を再度、大豆イソフラボンとして50mgを50mlの水に溶かし、クエン酸でpH=3.8に調整して、40℃、1ヶ月の安定性試験を行なった。この結果を表2に示す。

【0033】

【表2】

大豆イソフラボン 粗抽出物	サイクロデキストリン 添加量(mg/ml)	安定性試験	
		β-サイクロデキストリン	G2β-サイクロデキストリン
配糖体（マロニル体含有）	0.2	×	×
	2	×	×
	10	×	○
	20	○	○
	30	○	○
	40	○	○
	60	○	○
配糖体（マロニル体除去）	0.2	×	×
	2	○	×
	10	○	×
	20	○	○
	30	○	○
	40	○	○
	60	○	○

×-沈殿生成、○-沈殿認められず

#### 【0034】①大豆イソフラボンの構造の影響

アグリコンと比較して、配糖体を用いた場合において溶解性が良好で、ことにマロニル体を除去した配糖体が最もその溶解性が高かった。

#### ②サイクロデキストリンの添加量の影響

サイクロデキストリンの添加量が100mg以下においては、一時的には濾液は完全に溶解するが、安定性試験において沈殿を生じた。しかしながら、サイクロデキストリンの添加量が100mg以上の場合では、何れにおいても安定性が良好であった。

#### ③サイクロデキストリンの種類が及ぼす影響

非分岐型のβ-CDと比較して分岐型サイクロデキストリンである、G2β-CDおよびG2β-CDを含むCDにおいて溶解性が高値を示した。

#### 【0035】実施例1

大豆原料として大豆胚軸50Kgを粉砕し、80%アルコール水溶液 250Lで70℃程度で還流抽出し、大豆粗抽出物溶液を真空濃縮で約50Lとした。その溶液をダイヤイオンHP-20（三菱化成工業製）に吸着させ、大豆粗抽出物溶液を精製した。溶出液としては、4

0%アルコール溶液を用いた。濃縮物はさらに加熱、減圧により有機溶媒を完全に除去した。本工程により、固形分中大豆イソフラボン含有率42%の大豆粗抽出物を950gを得た。この大豆粗抽出物を、本発明の製造方法の出発原料として用いた。まず、該大豆粗抽出物を大豆イソフラボンとして10mg/mlの濃度となるように水95Lに懸濁させた。pHはリンゴ酸粉末を少しずつ加えpH5に調製した。G2β-サイクロデキストリンを50mg/mlとなるように添加した。約2時間20℃で混合攪拌した。その後、遠心分離機を用い、2500rpmで60分間遠心分離を行った。さらに、1μm程度のフィルターにより濾過を行った。得られた透明な溶液を加熱濃縮し、水易溶性大豆イソフラボン600gを得た。本品の大豆イソフラボン含量は19重量%であった。

#### 【0036】実施例2

大豆原料として脱脂胚軸50Kgを粉砕し、80%アルコール水溶液 250Lで70℃程度で還流抽出し、大豆粗抽出物溶液を真空濃縮で約40Lとした。その溶液をダイヤイオンHP-20（三菱化成工業製）に吸着さ

(6)

せ、大豆粗抽出物溶液を精製した。溶出液としては、40%アルコール溶液を用いた。濃縮物はさらに加熱、減圧により有機溶媒を完全に除去した。本工程により、固形分中大豆イソフラボン含有率35%の大豆粗抽出物を900gを得た。この大豆粗抽出物を次の工程で出発物質として用いた。まず、該大豆粗抽出物を大豆イソフラボンとして8mg/mlの濃度となるように水110Lに懸濁させた。pHはリンゴ酸粉末を少しずつ加えpH5に調製した。日研化学社製イソエリート-Pを100mg/mlとなるように添加した。約2時間25℃で混合

撈拌した。その後、遠心分離機を用い、2500rpmで60分間遠心分離を行った。さらに、1μm程度のフィルターにより濾過を行った。得られた透明な溶液を加熱濃縮し、水易溶性大豆イソフラボン550gを得た。本品の大豆イソフラボン含量は15重量%であった。

【0037】

【発明の効果】本発明により、水溶液中に高濃度で溶解し、経時安定性のよい水易溶性大豆イソフラボンの製造方法が提供される。